

03.09.2004

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

REC'D 24 SEP 2004

WIPO

PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 2003年 9月 5日

出 願 番 号
Application Number: 特願2003-313660
[ST. 10/C]: [JP2003-313660]

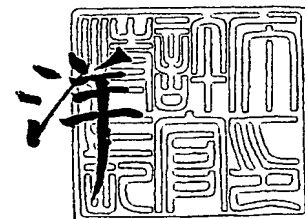
出 願 人
Applicant(s): 住友化学工業株式会社

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 8月18日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小 川



【書類名】 特許願
【整理番号】 P156137
【提出日】 平成15年 9月 5日
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 G01N 30/02
【発明者】
 【住所又は居所】 大阪市此花区春日出中三丁目 1 番 9 8 号 住友化学工業株式会社
 内
 【氏名】 山下 和子
【発明者】
 【住所又は居所】 大阪市此花区春日出中三丁目 1 番 9 8 号 住友化学工業株式会社
 内
 【氏名】 中井 清
【特許出願人】
 【識別番号】 000002093
 【氏名又は名称】 住友化学工業株式会社
【代理人】
 【識別番号】 100093285
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 久保山 隆
 【電話番号】 06-6220-3405
【選任した代理人】
 【識別番号】 100113000
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 中山 亨
 【電話番号】 06-6220-3405
【選任した代理人】
 【識別番号】 100119471
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 榎本 雅之
 【電話番号】 06-6220-3405
【手数料の表示】
 【予納台帳番号】 010238
 【納付金額】 21,000円
【提出物件の目録】
 【物件名】 特許請求の範囲 1
 【物件名】 明細書 1
 【物件名】 図面 1
 【物件名】 要約書 1
 【包括委任状番号】 0212949

【書類名】 特許請求の範囲**【請求項 1】**

試料注入部から注入された試料を1次元目分析用移動相により1次元目分析カラムに導いて分離し、分離された成分を溶離液とともに分画して分取部に保持する分画用流路と、

前記分取部に保持された成分と溶離液とを希釈液によりトラップカラムに送り出して前記成分をトラップカラムに捕捉させて濃縮するトラップ用流路であって、前記トラップカラムを複数設けたトラップ用流路と、

前記トラップカラムに捕捉された成分を2次元目分析用移動相により2次元目分析カラムに導いて分析する分析流路と、

前記トラップ用流路の一のトラップカラムでの捕捉・濃縮動作と、他のトラップカラムからの2次元目分析とを同時に行うための流路切替え機構とを備えたことを特徴とする液体クロマトグラフィー装置。

【請求項 2】

2次元目分析カラムがマイクロカラムであることを特徴する請求項 1 記載の液体クロマトグラフィー装置。

【書類名】明細書

【発明の名称】液体クロマトグラフィー装置

【技術分野】

【0001】

本発明は、高速液体クロマトグラフィー装置等の液体クロマトグラフィー装置に関し、特に分離した成分をトラップカラムに捕捉して濃縮する機能を備えた液体クロマトグラフィー装置に関するものである。

【背景技術】

【0002】

これまでの2次元高速液体クロマトグラフィー装置は、1次元目の分析でカラムの下流側で1つ以上の分析対象成分を含む溶離液を分画してトラップカラム等に分析対象成分を吸着させ、トラップカラムに吸着している分析対象成分を離脱させて2次元目の分析で再分析を行うというものであった。

【0003】

トラップカラムは1つのみが設けられており、トラップカラムでの捕捉・濃縮動作を終了した後、トラップカラムに捕捉された成分を溶出して2次元目分析カラムに導入するというように、捕捉・濃縮動作と2次元目分析とが時系列に行われている（例えば、非特許文献1、非特許文献2参照。）。

【0004】

【非特許文献1】 高圧液体クロマトグラフィー ―その生化学・医化学への応用―、P. R. BROWN著、西村暹、関谷剛男、葛西宏共訳、東京化学同人発行（1979年）、第21頁、第8行～第25頁、第6行。

【非特許文献2】 バイオテクノロジー分野における液体クロマトグラフィー、工業化技術総合資料集成、左右田健次監修者、株式会社NIS発行（昭和62年1月20日）、第169頁～第171頁。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

捕捉・濃縮動作と2次元目分析とが時系列に行われている従来の2次元高速液体クロマトグラフィー装置は、処理効率を向上させる上で限界がある。そこで、本発明は、2次元高速液体クロマトグラフィー装置等の液体クロマトグラフィー装置の処理効率を向上させることを目的とするものである。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明者らは、液体クロマトグラフィー装置の処理効率を向上させることを鋭意検討した結果、下記の発明に至った。

即ち、本発明は、

1. 試料注入部から注入された試料を1次元目分析用移動相により1次元目分析カラムに導いて分離し、分離された成分を溶離液とともに分画して分取部に保持する分画用流路と

、前記分取部に保持された成分と溶離液とを希釈液によりトラップカラムに送り出して前記成分をトラップカラムに捕捉させて濃縮するトラップ用流路であって、前記トラップカラムを複数設けたトラップ用流路と、

前記トラップカラムに捕捉された成分を2次元目分析用移動相により2次元目分析カラムに導いて分析する分析流路と、

前記トラップ用流路の一のトラップカラムでの捕捉・濃縮動作と、他のトラップカラムからの2次元目分析とを同時に行うための流路切替え機構とを備えたことを特徴とする液体クロマトグラフィー装置（以下、本発明装置と記すこともある。）；

2. 2次元目分析カラムがマイクロカラムであることを特徴する前項1記載の液体クロマトグラフィー装置；

等を提供するものである。

【0007】

本発明装置では、上記のように異種の動作を同時に行うことができるようにすることにより、従来のようにトラップカラムが1つで捕捉・濃縮動作と2次元目分析とが時系列に行われるのに比べると、処理効率が向上する。

【発明の効果】

【0008】

本発明装置では、トラップカラムを複数設け、一のトラップカラムでの捕捉・濃縮動作と、他のトラップカラムからの2次元目分析とを同時に行えるようにしたので、従来のようにトラップカラムが1つで捕捉・濃縮動作と2次元目分析とが時系列に行われるのに比べると、処理効果が向上する。

本発明装置では、トラップカラムを複数設け、一のトラップカラムでの捕捉・濃縮動作と、他のトラップカラムからの2次元目分析とを同時に行えるようにしたので、従来のようにトラップカラムが1つで捕捉・濃縮動作と2次元目分析とが時系列に行われるのに比べると、処理効果が向上する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0009】

本発明において「試料」とは、あらゆる形態の試料を意味し、試料成分自体、試料成分含有製剤等を溶液にしたものの他、例えば、血液、血漿、尿等を媒体とした試料成分等も挙げることができる。

本発明の好ましい形態では、2次元目分析用にマイクロカラム（例えば、新・高速液体クロマトグラフィー（編集者：波多野博行、株式会社南江堂（1978年11月30日））、第49頁～第50頁参照。）を用いられる。これにより、トラップカラムに捕捉された試料が2次元目分析用カラムで効率的に高濃度に濃縮され、高感度分析が達成される。

【実施例】

【0010】

次に、図面を参照して実施例を詳細に説明する。

【0011】

実施例1

図1は第1の実施例を表す。

1次元目分析用移動相と希釈液とを供給するために互いに独立に流量を設定することのできる2台の送液ポンプ2aと2bが設けられている。送液ポンプ2aには1次元分析用移動相である有機溶媒4aと希釈液6aとの流路が接続されている。有機溶媒4aと希釈液6aとはガスの混入を防止するオンラインデガッサ8から切替えバルブ10を介して送液ポンプ2aに接続されており、切替えバルブ10によって有機溶媒4aと希釈液6aとの何れかの流路が切り替えて接続されるようになっている。同様に、他方の送液ポンプ2bには1次元分析用移動相である水4bと希釈液6bとの流路が接続されている。水4bと希釈液6bともオンラインデガッサ8から切替えバルブ10を介して送液ポンプ2bに接続されており、切替えバルブ10によって水4bと希釈液6bとの何れかの流路が切替えられて接続されるようになっている。

【0012】

希釈液6aと6bとは同じものであり、移動相4a、4bに応じてトラップカラムへの吸着効率を高めるような溶媒を選択して使用する。

送液ポンプ2aと2bとの下流の流路は切替えバルブ12を介して両流路の液を混合するミキサ14に接続され、ミキサ14で混合された溶液の流路が試料導入部であるオートサンプラ16を介して1次元目分析カラム18に接続されている。

【0013】

分析用カラム18の下流の流路はUV（紫外線）検出器20に接続され、分析カラム18で分離された成分が検出器20で検出されるようになっている。

検出器20の下流の流路は切替えバルブ22を介してフラクションループ24に接続され

ている。フラクシヨナループ24は2つの分配バルブ26aと26bとの間に複数の流路を並列に備え、分画した成分と移動相とをそれぞれの流路に保持できるようになっている。切替えバルブ22にはドレインへつながる流路も接続されている。

【0014】

バルブ12と22との間には2つの流路が接続され、一方の流路は分岐してトラップ用流路に接続されている。トラップ用流路ではトラップカラムが30a及び30bとして示されるように2つ設けられ、切替えバルブも28aと28bとして示されるように2つ設けられ、トラップカラム30aと30bとがともに切替えバルブ28aと28bとに接続されて同時に使用できるようになっている。バルブ12と22との間の一方の流路から分岐した流路は切替えバルブ28bに接続され、その切替えバルブ28bには更に2次元目分析カラム32も接続されている。分析カラム32の下流の流路にはUV検出器34が接続されている。

【0015】

2次元目分析用移動相を供給するために2台の送液ポンプ36aと36bとが設けられている。送液ポンプ36a、36bには2次元目分析用移動相である有機溶媒38a及び水38b用の流路がオンラインデガッサ39を介してそれぞれ接続されている。送液ポンプ36aと36bとの下流の流路は両流路の液を混合するためのミキサ40を介して切替えバルブ28aに接続されている。

42はカラムオープンであり、カラム18と30a、30bとを一定の温度に保持する。

【0016】

分析カラム18、32としては、順相カラム、逆相カラム、イオン交換カラム、アフィニティクロマトカラム、GPC（ゲル浸透クロマトグラフィ）カラム等、種々のカラムを分離分析しようとする成分に応じて選択して使用すれば良い。トラップカラム30a、30bとしては分析カラム18、32と同種のカラムで短いものを使用することができる。

【0017】

次に、この実施例の動作について説明する。

(1次元目分析)

図1は1次元目分析及び分画の工程を表したものである。流路で太線で表されている部分は当該工程の動作を示す流路である。以下の図の説明でも同じである。

【0018】

切替えバルブ10により移動相4aと4bとが選択されている状態で送液ポンプ2aと2bとが送液を行う。移動相は切替えバルブ12を経てミキサ14で混合され、オートサンプラ16を経て分析カラム18に流れる。オートサンプラ16から注入された試料は分析カラム18で分離され、溶出して検出器20で検出される。検出器20でピーク検出が行われると、その信号に応じて分配バルブ26aと26bとが働き、フラクシヨナループ24の何れかに分画された試料成分が移動相とともに保持される。

【0019】

検出器20によりピーク検出が行われる毎に分配バルブ26aと26bが切り替えられてそれぞれのフラクシヨナループ24に分画された試料成分と移動相の保持がなされていく。

分析カラム18から流出する移動相でフラクシヨナループ24に保持されなかったものは、ドレインから排出されていく。

【0020】

この工程の間も、2次元分析用移動相38aと38bとがオンラインデガッサ39を経て気泡が除去された状態でそれぞれ送液ポンプ36aと36bとにより供給され、ミキサ40で混合されて送られ、切替えバルブ28aからいずれかのトラップカラム30a又は30bを経て2次元目カラム32に移動相が流れてコンディショニングが行われる。

【0021】

(濃縮と2次元目分析)

図2より、トラップカラム30bによる濃縮と、トラップカラム30aに捕捉されていた試料成分を溶出して分析カラム32で2次元目分析を行う動作を説明する。

【0022】

切替バルブ10が切り替えられて、希釈液6aと6bとが送液ポンプ2aと2bとによって供給される。送液ポンプ2bにより供給される希釈液は切替バルブ12, 22を通過して分配バルブ26bから所定のフラクシヨナループ24を通り、そのフラクシヨナループ24に保持されていた分画成分と移動相とが切替バルブ26aから切替バルブ22, 28bを通り、トラップカラム30bに導かれる。このとき、希釈液6aがポンプ2aから切替バルブ12を経て供給され、フラクシヨナループ24を経た流路と合流し、その流路からの移動相を希釈しながらトラップカラム30bへ導かれる。トラップカラム30bでは試料成分が捕捉されることにより濃縮されていく。トラップカラム30bを経た移動相と希釈液とは切替バルブ28aを経てドレインへ排出される。

【0023】

一方、2次元分析用移動相38aと38bとがオンラインデガッサ39を経て気泡が除去された状態でそれぞれ送液ポンプ36aと36bとにより供給され、ミキサ40で混合されて送られる。その混合された移動相は切替バルブ28aを経てトラップカラム30aに至り、トラップカラム30aに捕捉されていた試料成分を溶出して切替バルブ28bから2次元目分析カラム32に導く。分析カラム32に導かれた試料成分は更にその分析カラム32で分離され、溶出して検出器34で検出される。

【0024】

切替バルブ28aと28bとを切替えると、トラップカラム30aによる濃縮と、トラップカラム30bに捕捉されていた試料成分を溶出して分析カラム32で2次元目分析を行う動作を行うようになる。

【0025】

実施例2

図3は第2の実施例を表す。

図1の実施例と比較すると、トラップカラム30a, 30bはそれぞれ複数個が並列に設けられ、それぞれ分配バルブ42a, 42bと分配バルブ44a, 44bとによりいずれが選択できるようになっている点で異なる。

【0026】

この実施例は1次元目分析動作及び分画の動作と、2次元目分析とを同時に行うとともに、トラップによる濃縮動作と2次元目分析とを同時に行うようにしたものである。

【0027】

(1次元目分析及び2次元目分析)

図3は1次元目分析及び分画の工程と2次元目分析とを同時に行う動作を表したものである。

実施例1の図1に示した動作と同じく、1次元目分析及び分画の動作を行う。

【0028】

一方、2次元分析用移動相38aと38bとがオンラインデガッサ39を経て気泡が除去された状態でそれぞれ送液ポンプ36aと36bとにより供給され、ミキサ40で混合されて送られる。その混合された移動相は切替バルブ28aを経て分配バルブ42a, 42bにより選択されたトラップカラム30aの1つに至り、そのトラップカラム30aに捕捉されていた試料成分を溶出して切替バルブ28bから2次元目分析カラム32に導く。分析カラム32に導かれた試料成分は更にその分析カラム32で分離され、溶出して検出器34で検出される。

【0029】

切替バルブ28aと28bとを切り替えると、分配バルブ44a, 44bにより選択されたトラップカラム30bの1つに捕捉されていた試料成分を溶出して分析カラム32で2次元目分析を行う動作を行うようになる。

【0030】

(濃縮と2次元目分析)

図4は、分配バルブ44a, 44bにより選択されたトラップカラム30bの1つによる濃縮と、分配バルブ42a, 42bにより選択されたトラップカラム30aの1つに捕捉されていた試料成分を溶出して分析カラム32で2次元目分析を行う動作とを示したものである。この動作は図2の動作の説明と同じである。

【図面の簡単な説明】

【0031】

【図1】第1の実施例を1次元目分析工程の状態を示す流路図である。

【図2】同実施例を濃縮工程及び2次元目分析工程の状態を示す流路図である。

【図3】第2の実施例を1次元目分析工程及び2次元目分析工程の状態を示す流路図である。

【図4】同実施例を濃縮工程及び2次元目分析工程の状態を示す流路図である。

【符号の説明】

【0032】

2a, 2b, 36a, 36b 送液ポンプ

4a, 4b 1次元分析用移動相

6a, 6b 希釈液

8, 39 オンラインデガッサ

10, 12, 22, 28a, 28b, 50 切替えバルブ

14, 40 ミキサ

16 オートサンプラ

18, 32 分析カラム

20 UV検出器

24 フラクシヨナループ

26a, 26b, 42a, 42b 分配バルブ

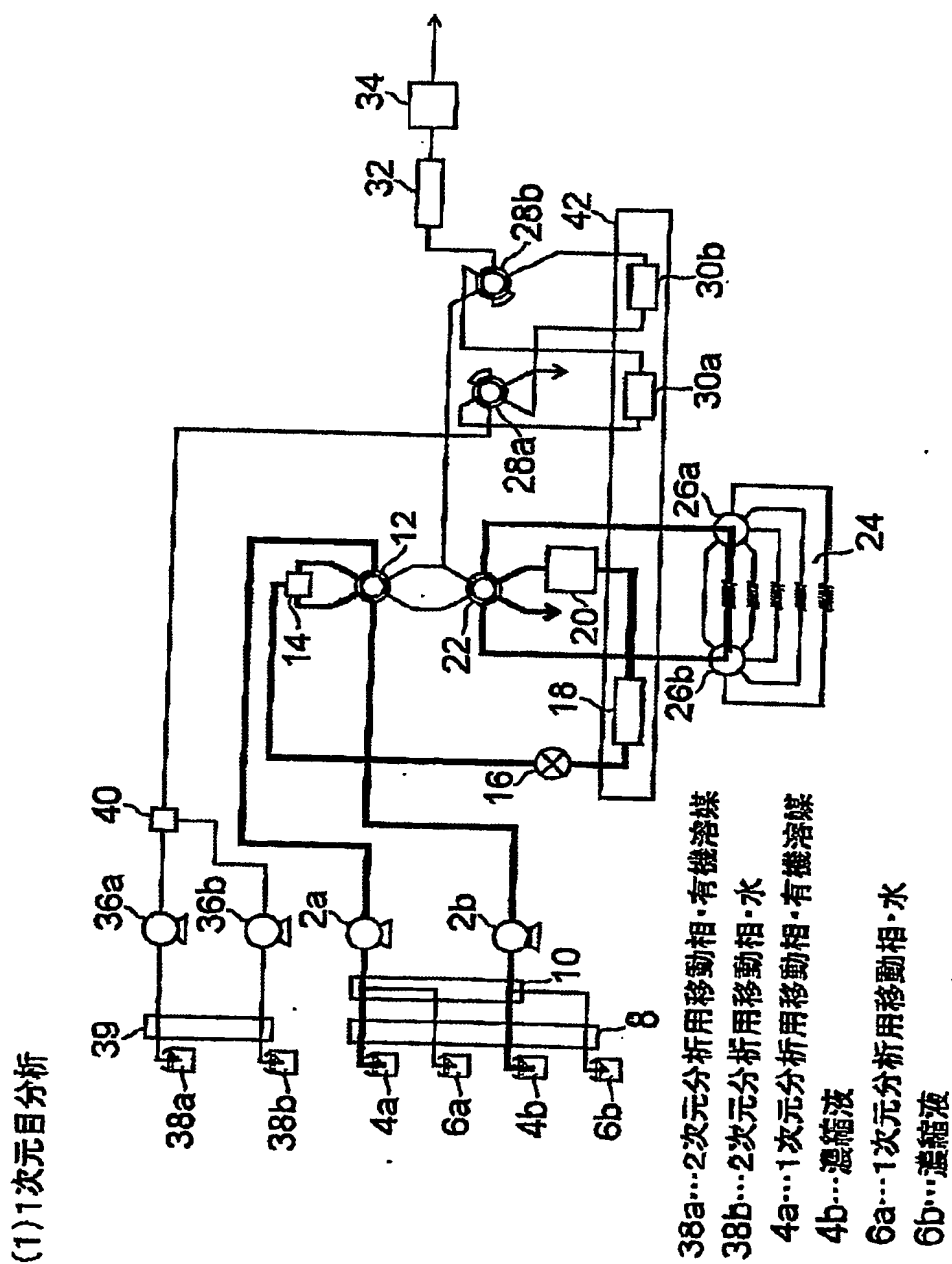
30a, 30b トラップカラム

42 カラムオープン

【書類名】 図面

【図 1】

【圖 1】



38a...2次元分析用移動相・有機溶媒

38b...2次元分析用移動相・水

4a...1次元分析用移動相・有機溶媒

4b--濃縮液

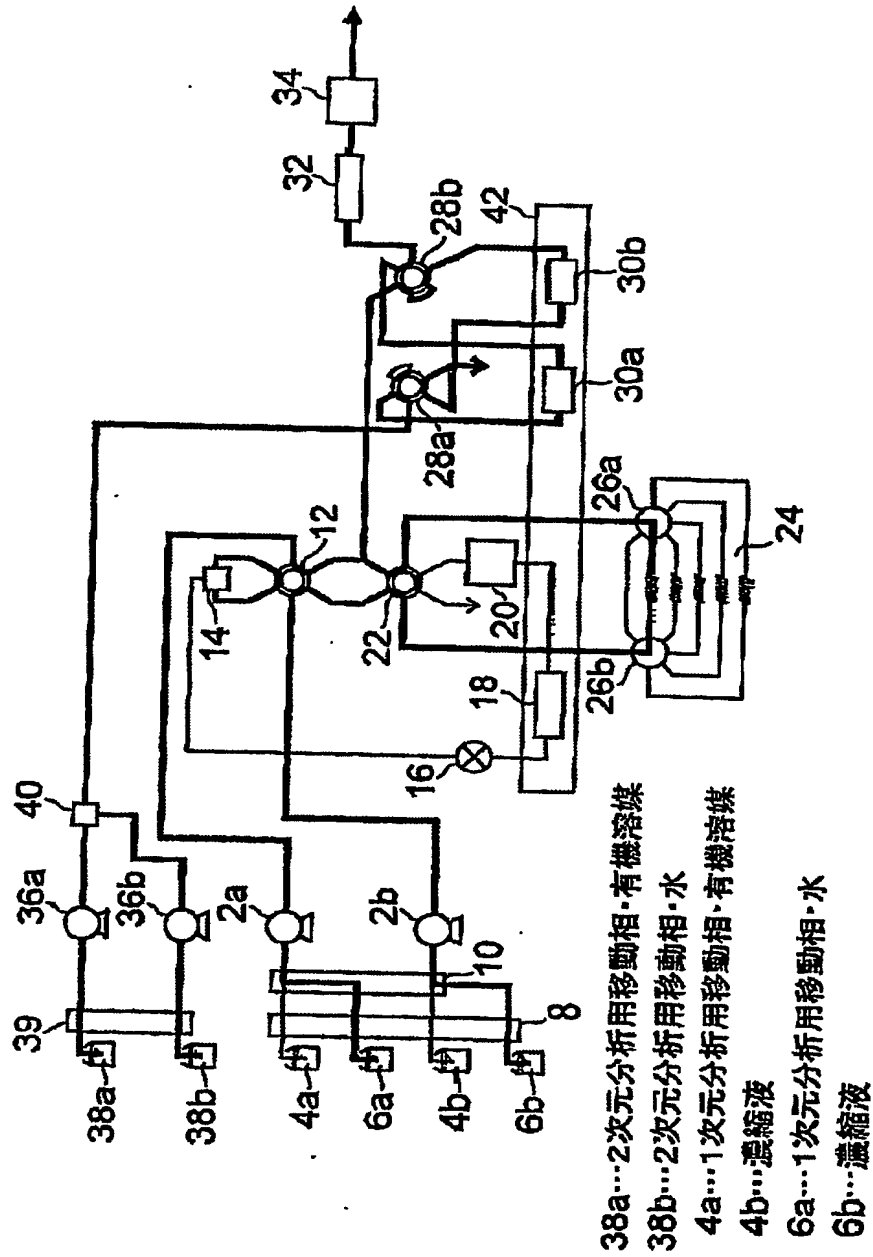
6a...1次元分析用移動相・水

6b.濃縮液

【図2】

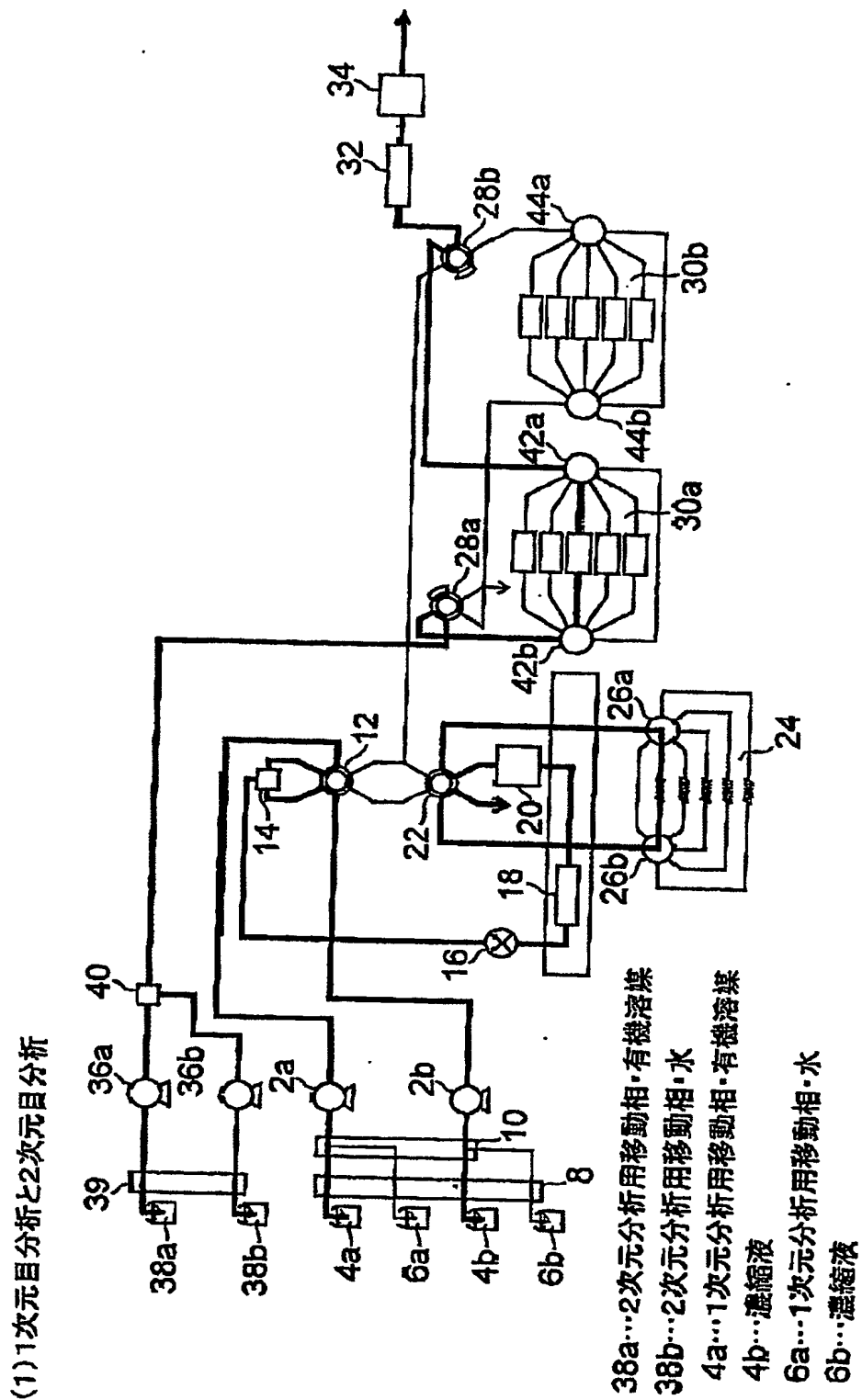
【図2】

(2)濃縮と2次元目分析



【図 3】

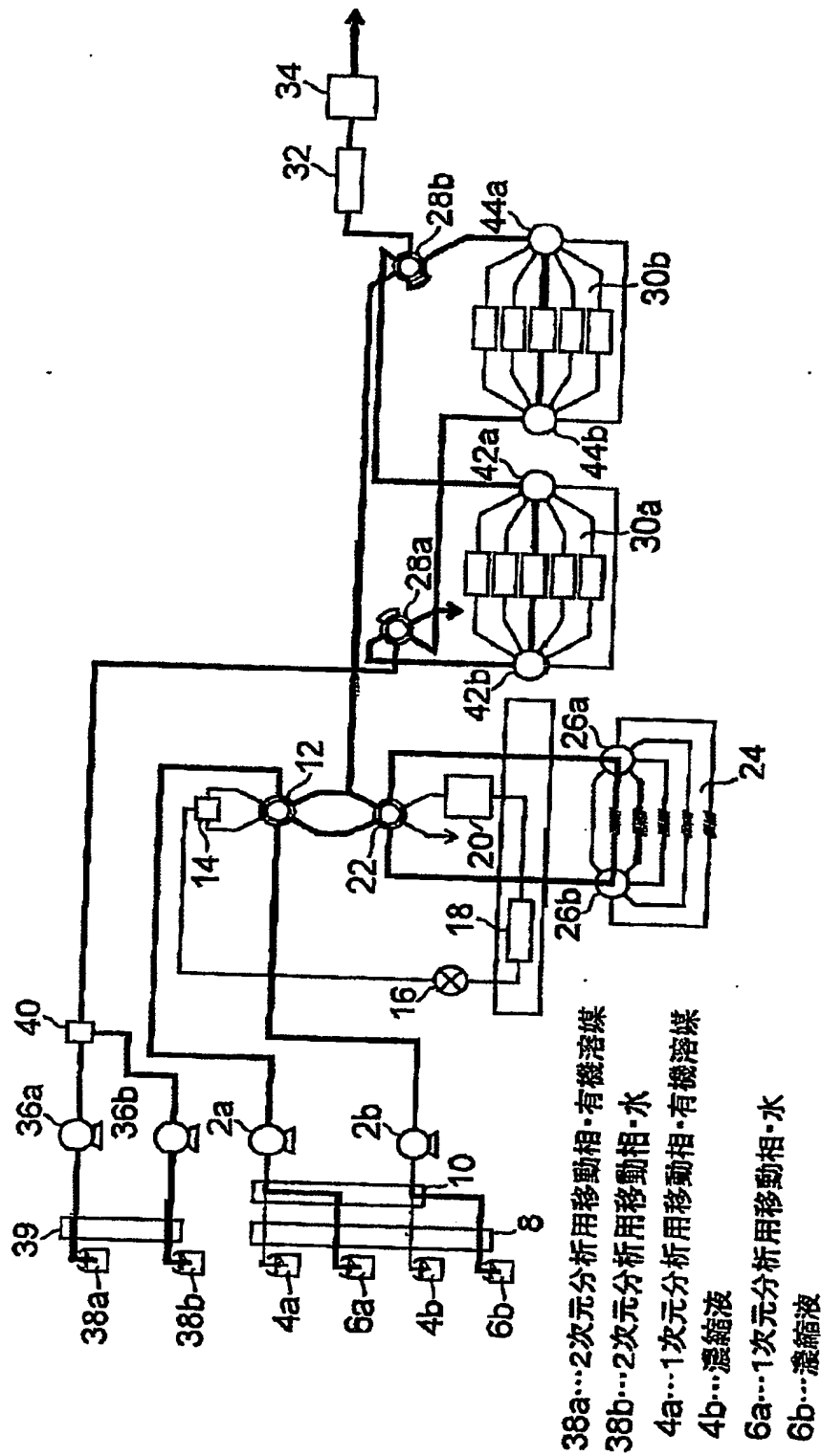
【図 3】



【図4】

【図4】

(2)濃縮と2次元目分析



【書類名】 要約書**【要約】****【課題】**

液体クロマトグラフィー装置の処理効率を向上させる。

【解決手段】

試料注入部から注入された試料を1次元目分析用移動相により1次元目分析カラムに導いて分離し、分離された成分を溶離液とともに分画して分取部に保持する分画用流路と、

前記分取部に保持された成分と溶離液とを希釈液によりトラップカラムに送り出して前記成分をトラップカラムに捕捉させて濃縮するトラップ用流路であって、前記トラップカラムを複数設けたトラップ用流路と、

前記トラップカラムに捕捉された成分を2次元目分析用移動相により2次元目分析カラムに導いて分析する分析流路と、

前記トラップ用流路の一のトラップカラムでの捕捉・濃縮動作と、他のトラップカラムからの2次元目分析とを同時に行うための流路切替え機構とを備えたことを特徴とする液体クロマトグラフィー装置。

【選択図】 図2

特願 2 0 0 3 - 3 1 3 6 6 0

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [0 0 0 0 0 2 0 9 3]

1. 変更年月日 1 9 9 0 年 8 月 2 8 日

[変更理由] 新規登録

住 所 大阪府大阪市中央区北浜 4 丁目 5 番 3 3 号

氏 名 住友化学工業株式会社